

La resistencia bacteriana transmitida al hombre a través de los alimentos y el uso responsable de los antimicrobianos como moduladores de crecimiento.

Comunicación del Académico de Número Dr. M. V. Emilio Gimeno.

INDICE

INTRODUCCIÓN

- I.- LA ACTIVIDAD ANTIBIOTICA.
- II.- LA GENERACION MICROBIANA DE LA RESISTENCIA.
- III.- ASPECTOS TECNICOS Y PRACTICOS DE LA TRANSFERENCIA DE LA BACTERIO-RESISTENCIA POR ALIMENTOS AL HOMBRE.
- IV.- LA PROBLEMÁTICA DEL USO DE LOS ANTIMICROBIANOS COMO MODULADORES DE CRECIMIENTO.
- V.- LA APLICACIÓN DE LAS TECNICAS DE ANALISIS DE RIESGO.
- VI.- ANALISIS DE OBSERVACIONES Y POLEMICAS SOBRE CASOS DE BACTERIO-RESISTENCIA EN LOS ULTIMOS AÑOS.
 - 1. EL CASO AVOPARICINA-VANCOMICINA EN ENTEROCOCCUS.
 - 2. LOS CASOS DE SALMONELLA RESISTENCIA.
 - 3. EL GENERO CAMPYLOBACTERIUM Y LA RESISTENCIA.
- VII.- EL PROBLEMA DE LA RESISTENCIA Y LAS LEGISLACIONES.

RESUMEN

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

INTRODUCCION

Los antimicrobianos moduladores de crecimiento, desde hace años vienen siendo cuestionados por razones que vinculan la bacterio-resistencia a la Salud Pública, bajo la hipótesis de su transmisión al hombre por los alimentos. Aparecen así sospechas resultantes de observaciones parciales e informaciones no siempre confirmadas, que se deben estudiar más exhaustivamente, con técnicas como el Análisis de Riesgo y la aplicación de métodos modernos de tipificación biotecnológica, para efectivamente demostrar que la vehiculización alimentaria de las moléculas de antibióticos, es una real causa de efectos clínicos de resistencia en el hombre. El planteo realista de este problema frente a la utilización terapéutica masiva de los antibióticos, como verdadera causa de la bacterio-resistencia en la flora del hombre, es el motivo que nos llevó a elaborar este trabajo, buscando hacer un aporte a la mejor comprensión de un complejo problema.

Desde la década del 80' en Europa hay una franca oposición básicamente emocional contra los aditivos alimentarios, que a pesar de ser inocuos en su aplicación correcta, son rechazados. Está reacción fundamentalmente esta impulsada por las políticas agrícolas de la Unión Europea (UE), ya que los promotores de crecimiento son elementos que originan una mayor producción y por ende, más necesidades de financiación para satisfacer los subsidios.

Dinamarca y Suecia fueron los primeros Países en prohibir los antimicrobianos en los alimentos, para frenar la superproducción de pollos y cerdos. Luego en 1996 la UE prohibió

la AVOPARCINA por ser un glicopéptido asociado a la VANCOMICINA, de gran uso en la terapéutica anti-infecciosa humana. Más recientemente en 1998, se prohibieron 4 promotores de crecimiento a partir de julio de 1999, a pesar de los informes técnicos del Comité Científico en Nutrición Animal de la Comunidad, que respaldan la inocuidad en su uso correcto.

Ante el avance de la decisión política de impulsar las prohibiciones en base a criterios más intencionales que técnicos, que desorientan al consumidor, la industria responsable debe alzar su opinión en defensa no sólo de sus legítimos intereses, sino de la producción de alimentos en un mundo en crecimiento que los necesita más allá y a pesar de las políticas europeas de subvención.

Es necesario plantear esta defensa con criterios universales y científicos y no caer en los caminos peligrosos que tras la aparente defensa de la ética generan en realidad, una falta de ella y promueven ideas distorsionadas para un consumidor desprevenido, a quien en definitiva se le está encareciendo o cercenando la producción de más alimentos.

La finalidad de esta publicación es hacer un aporte para esclarecer a la opinión pública sobre la teoría y práctica de la resistencia bacteriana en relación con los moduladores de crecimiento, aportando datos, informes e ideas basadas en aspectos técnicos y hechos prácticos, científicamente demostrados sobre información consolidada.

Este informe intenta enfocar el tema más allá de las implicancias económicas a favor o en contra y tiene como objetivo alertar al consumidor, a los productores y profesionales, y a las

* Recibido para publicación el 17 de Mayo de 2001

autoridades reguladoras frente a los intereses de políticas económicas sectoriales y tendenciosas. Estos procedimientos están originando perjuicios no sólo a los verdaderos intereses del consumidor, tras la apariencia de defenderlos, sino a las normas de la investigación científica y a la aplicación tecnológica, atrasando y coartando los beneficios a una importante parte de la población que necesita alimentos, inocuos, nutritivos y económicos.

I.- LA ACTIVIDAD ANTIBIOTICA

A partir de 1940 el uso de los antibióticos cambió el cuadro fatal de muchas enfermedades infecciosas en el hombre, amplió la expectativa de vida y redujo el peso económico de muchas enfermedades en los animales.

Por 1949 se descubrió que los residuos de la fermentación de TETRACICLINAS, producían además extraordinarios efectos en el crecimiento y engorde de los animales, mejorando su rendimiento productivo entre 5 y 15%. Desde entonces se desarrolló un importante campo para los antimicrobianos en la producción animal que significó un avance tecnológico y una mejora en el rendimiento productivo, derivado no sólo de la acción de los antimicrobianos que disminuían las enfermedades, sino por el incremento de la conversión de los alimentos .

Por lo tanto el análisis del uso de los antibióticos y moduladores de crecimiento debe hacerse enfocando dos aspectos. Uno es la acción directa sobre los microorganismos y otro en sus funciones moduladoras y promotoras de los procesos metabólicos de la nutrición animal.

1. Acción farmacológica sobre microorganismos: La inhibición de la multiplicación y destrucción de las células bacterianas se cumple mediante cuatro principales mecanismos, por los cuales los antibióticos producen su efecto farmacológico

a) Por inhibición de la síntesis de la pared celular

BETALACTAMICOS: Penicilinas, Cefalosporinas

GLICOPEPTIDOS: Vancomicina, Avoparcina.

b) Por alteración de la síntesis proteica: La acción se centra en la interferencia de la actividad ribosómica del " RNA transferencia" y de enzimas encargadas de la síntesis péptidas

i) Ribosomas 50 s inhibidores - MACROLIDOS, ERITROMICINA, CLORANFENICOL.

ii) Ribosomas 30 S inhibidores - TETRACICLINAS, GENTAMICINA, AMINOGLICOSIDOS, ESTREPTOMICINA

c) Por alteración de los "pathways" enzimáticos y alteraciones en el intercambio iónico a nivel membrana y citoplasma. (IONOFOROS)

d) Por inhibición de la replicación del DNA a nivel cromosómico. Efectos antibióticos por inactivación enzimática, de funciones dirigidas por los ácidos nucleicos : QUINOLONAS, RIFAMPIN.

2. Acciones antimicrobianas de efecto metabólico nutricional: Las acciones farmacológicas antibióticas se expresan selectivamente contra gérmenes patógenos, liberando al organismo de ellos. Otras moléculas actúan

por selección en el tracto digestivo animal, de algunos microorganismos que producen fermentaciones útiles para el metabolismo animal. En este caso estas funciones consisten en la mayor formación de ácido propiónico y la reducción de las fibras que generan ácido LÁCTICO, BUTÍRICO Y ACÉTICO. Estos procesos se desarrollan principalmente en el rumen de los rumiantes y para los monogástricos en el tracto ileo-cecal. Además facilita, como acción derivada de estos procesos, una mejor absorción en la mucosa digestiva por disminución del deterioro de la pared intestinal, que degradan las bacterias. En general por la mejor metabolización, también se reduce significativamente la masa de excretas y consecuentemente disminuye también el deterioro del ambiente.

Otro aspecto importante es que algunos de los moduladores de crecimiento son moléculas que no son absorbidas por el intestino, lo cual los hace atóxicos y reducen por lo tanto significativamente el periodo de retiro, luego de su administración.

Resultante de todo esto, según lo demuestra una abundante literatura científica, derivan las mejoras del orden del 5 al 15% en los rendimientos productivos, una disminución importante de enfermedades y de la mortalidad animal.

Estudios realizados en el Reino Unido demuestran que el valor de recuperación en explotaciones de pollos y cerdos, derivado del uso de los moduladores de crecimiento, llega a 290.000 Ton. de ahorro de alimento, 25.000 Has menos de cereales sembrados y se producen 522.000Ton. menos de excretas animales que contaminan el ambiente (1)

II.- LA GENERACIÓN MICROBIANA DE LA RESISTENCIA

La mutación selectiva en biología es una ley raramente inmutable que describió Darwin en el siglo pasado. Hoy los avances de la genética y la biología molecular permiten reconocerla más profundamente en sus caracterizaciones biológicas, identificando los mecanismos genéticos, enzimáticos y bioquímicos que las generan.

Las poblaciones bacterianas frente a una sustancia extraña como es un antibiótico, reciben un impacto mortal, al que algunos individuos logran resistir. Para ello se organizan los procesos metabólicos microbianos que neutralizan la acción antibiótica, generando la llamada RESISTENCIA. Este es un fenómeno universal, que se cumple desde el origen propio de las formas de vida y que depende de diversos factores.

1. Tiempo de exposición de la sustancia antibiótica sobre el microorganismo. Cuanto más largo es el tiempo de aplicación de un antibiótico, más posibilidades de generar individuos con mecanismos de resistencia.

2. Concentraciones de la molécula
-Bajos niveles de la sustancia forman la aparición de individuos resistentes a ese nivel, que a concentraciones superiores sucumben. Por el contrario, diluciones muy altas, como las resultantes en los residuos detectables en alimentos, si bien identificadas por métodos analíticos muy sensibles, no llegan a afectar las poblaciones microbianas, para desarrollar individuos resistentes (ver Sección III)

3. Tipos de Gérmenes

Según la capacidad metabólica funcional del germen, podrá en mayor o menor grado, adaptarse al medio en presencia del antibiótico para poder expresar su virulencia y patogenicidad.

4. El ambiente donde actúa el antibiótico puede o no favorecer la supervivencia del germen. No es lo mismo la acción "in vitro" que en los tejidos animales o en un medio con sustancias protectoras como ciertas proteínas. En el organismo además de la acción letal del antibiótico, existen defensas que contraatacan al germen y que se suman a la acción farmacológica.. "In vitro" en cambio sustancias, como las proteínas y grasas, sirven para proteger las bacterias y dificultar la acción del antibiótico.

Dentro de este marco que influye en la acción antibiótica, los procesos mediante los cuales las bacterias generan resistencias, se pueden clasificar según los siguientes mecanismos:

1. Natural resistencia de la pared microbiana a la sustancia antibiótica: La membrana microbiana no permite la relación bacteria-sustancia antibiótica, e impide su penetración para que ésta pueda ejercer la acción sobre el metabolismo microbiano.

2. Resistencia adquirida, mediante modificaciones de los "pathways" metabólicos, según alguno de los siguientes procesos: (2)

a) Conjugación : Una vez aparecido el individuo genéticamente organizado para neutralizar las acciones químicas metabólicas que regirá la supervivencia, se transfiere el segmento del código genético que dirige esta resistencia, a otros individuos por medio de

plásmidos (ácidos nucleicos extranucleares o no cromosómicos), que se vehiculizan por "transportadores" enzimáticos. (DNA extracromosómicos o "gen pool" que transportan y transmiten la capacidad de resistencia codificada entre otras colonias de bacterias.)

b) Transducción: El material genético resistente se vehiculiza por lisis bacteriana, originada por "fagos", que invaden otras bacterias, en las que se "internaliza" el código genético..

c) Transformación: Se libera al medio el DNA, con códigos resistentes de una bacteria y es absorbido directamente por otra, que lo organiza dentro de sus propios códigos genéticos.

Estos fenómenos son procesos biológicos que ocurren permanentemente entre los microorganismos. Son de carácter universal, que no sólo ocurren entre individuos de la misma especie bacteriana, sino mediante plásmidos que pueden pasar entre especies distintas como es el caso de *Enterococcus* resistentes que transfieren material genético a *Escherichia coli* y a *Campylobacter* spp (3)

También hay grados de adaptación que generan las bacterias frente a un antibiótico determinado, mediante acciones metabólicas de resistencia, que se extienden contra otro antimicrobiano químicamente relacionado con el primero. Por ejemplo gérmenes *Staphylococcus* spp, eran ante la penicilina altamente susceptibles hasta 1941. Tres años después aparecieron cepas que en base al desarrollo de una penicilinasas generada por el gen designado como MEC A, producen una nueva proteína PBP2a, que tiene la propiedad de generar una baja

afinidad a la acción de los B lactámicos en general.

Por lo tanto esa resistencia se extiende a otras moléculas B lactámicas como AMPICILINA, CEFALOSPORINA, METILPENICILINA. Se constituye así una permanente lucha entre la variación microbiana y la búsqueda de nuevas moléculas, generadas por la industria farmacéutica, para neutralizar por lo menos temporariamente, los mecanismos de resistencia de acuerdo a forma, grado y periodicidad con que se presentan.

Por ejemplo frente a la "meticilin" resistencia del "Staphylococcus aureus" (MPSA), surgen las fluoroquinolonas en los años 80' que actúan contra esas formas resistentes con gran éxito. Posteriormente aparecen otras cepas de Staphylococcus fluoroquinolonas- resistentes, por modificación del DNA en el codón 84 o 85, con una enzima DNA girasa, que resiste a la presión del antibiótico con la concentración de hasta $< 2 \text{ ug/ml}$ (4)(2).

Este es un ejemplo de la interacción tiempo y efectos de la concentración de una molécula, contra una especie bacteriana, en esta lucha continua de variabilidad-resistencia frente a nuevas moléculas que se descubren y fabrican para neutralizarlas. Surge claro que la bacterio-resistencia es un fenómeno biológico, universal y continuo contra el cual debe actuarse en función de la vigilancia permanente y de su comprensión realista, en base a ANALIZAR y EVALUAR cual es el verdadero GRADO DE RIESGO comprendiendo su importancia en el campo real y organizando los criterios de manejo consecuentes.

Es evidente que la modificación microbiana existe y se expresa contra

moléculas con un nivel de susceptibilidad diferente, pero debe tenerse en cuenta, que muy pocas veces en la práctica, resulta tan alto y complejo que no pueda ser controlado con un adecuado manejo. Ello incluye la buena praxis médica, las buenas prácticas veterinarias y agrícolas y las buenas prácticas de manufactura. Todo ello coordinado y con una clara visión de la verdadera dimensión del problema en la relación animal-alimentos y salud humana.

III.- ASPECTOS TEORICOS Y PRACTICOS DE LA TRANSFERENCIA DE LA BACTERIORESISTENCIA POR LOS ALIMENTOS AL HOMBRE.

Dado que la variabilidad que representa la bacterioresistencia es un hecho biológico universal, superior al manejo del hombre, pues es una característica intrínseca del funcionamiento de los seres vivos, la única forma de manejarse ante ella es monitoreando permanentemente su marcha en el tiempo, espacio, lugar y hospedador animal.

Afortunadamente el Método del Análisis de Riesgo demuestra que en general existe una diferencia importante entre los niveles de resistencia comprobados en las pruebas "in vitro" y los resultados de la terapéutica antibiótica aplicable a los seres vivos. Por ejemplo: en la mayoría de los antibióticos de la lista presentada en la TABLA 1 la antibióticoresistencia llega hasta niveles promedio de 20 ppm y las dosis terapéuticas de uso para cada uno de los antibióticos, corresponde a valores de 10 a 100 veces superior, lo que asegura su efecto clínico (3)

Otro aspecto que relativiza el

impacto de la antibiosis resistencia en su transmisión por los alimentos, como vehículo para afectar al hombre, es el bajo nivel de residuos de antibiótico que contienen, como para llegar a modificar la flora intestinal humana. Por ejemplo Tancrede y Barakat (5), tratando la oxitetraciclina para anaerobios fecales en voluntarios humanos, demostraron que para generar resistencia era necesario llegar a un nivel de antibiótico de 20 mg diarios y que no se producía a 2 mg diarios. Ese nivel no es alcanzado por los residuos en los alimentos como carne o leche, que transportasen restos de oxitetraciclina, en base a los LMR (límite máximo de residuos) y ADI (ingesta diaria admisible) que son reconocidos y aceptados por el Codex Alimentarius.

Deben mencionarse aquí, los representativos trabajos de D.E. Corpet, en Francia, titulando ampicilina, sobre gérmenes coliformes. Observó que las dosis de hasta 1.5 mg/día, no tenían efectos sobre la generación de resistencia. Calculando que para llegar a esa dosis, sería necesario un consumo diario de 150 gr. de carne conteniendo un residuo de 10 ppm o 1.5 kg de carne con 1 ppm, de ampicilina, se concluye que muy difícilmente esas cantidades, se encuentran como residuos resultantes de tratamientos terapéuticos en animales, para ser generadores de resistencia bacteriana en el hombre.(6). El LMR para ampicilina según FDA (CFR 21/USA) en tejidos animales, incluyendo leche, es de 0,01 ppm. Estas observaciones demuestran que dado el muy diluido nivel de concentración de antibiótico presente en alimentos, no se concluye que se pueda generar resistencias importantes, de acuerdo a los estudios de concentración del

antimicro-biano y el necesario para la inducción de resistencia .

El riesgo en Salud Pública radica en la contaminación bacteriana en sí misma, con o sin "pool de genes" resistentes, que se transmite al hombre vía alimentos como enfermedad zoonótica, por medio de elementos contaminados o por sistemas de manipulación alimentaria que no guardan principios de higiene. Es importante resaltar la importancia de las técnicas de HACCP (Vigilancia por control de puntos críticos) o de las buenas prácticas de manufactura (BPM), para reducir los riesgos en general, de la transmisibilidad de las contaminaciones bacterianas por alimentos al hombre, más allá de las eventuales que transmitan resistencia.

Es un concepto que está científicamente admitido actualmente, que a los niveles de residuo de antimicrobianos en alimentos, debajo de los LMR y con el cumplimiento de los tiempos de retiro, según las dosis comúnmente usadas, no se generan niveles de inducción a la bacteri-resistencia. Por lo tanto de acuerdo a experiencias universalmente reconocidas, el riesgo real para el hombre reside en la transmisión de gérmenes vehiculizables por los alimentos y ese es el aspecto que debe estudiarse vinculado con las resistencias.

El tema fue analizado, a través de los años, por numerosas Comisiones y Comités de Estudios sobre la transmisión de la bacteri-resistencia por alimentos, principalmente en USA y en Europa. Se pueden mencionar entre los más destacados, los siguientes:

- Comité Netherthispe (Inglaterra 1962)
- Swann Report Commission (1961)
- FDA Task Gene (US 1971)
- Office of Technology Assessment

(1979-95 US)

-Council of Agriculture and Technology (US 1981)

-National Academy of Sciences (US. 1989)

En todos los casos nunca se llegó a ninguna conclusión demostrativa de la transmisión de resistencia a los antibióticos por niveles de residuos en antibióticos encontrados en alimentos. Resultan indicadores los estudios realizados en el Reino Unido (RU) con respecto a cepas de Escherichia coli resistentes en personas vegetarianas, en las que aparecen mayores prevalencias

que en los individuos de hábitos carnívoros. Todo hace pensar que el agua y factores ambientales tienen tanta importancia en la transmisión bacteriana como los alimentos de origen animal (7) (8), (9).

En conclusión el problema es de Salud Pública y reside en la difusión de bacterias de animales al hombre, -resistentes o no- pero de ninguna forma derivado de los residuos de antibióticos en alimentos, como factor desencadenante que crea resistencia de las bacterias en el hombre.

Tabla I
Lista de antibióticos usados como moléculas de crecimiento

Sustancia	Grupo Químico	Acción de Inhibición	Espectro de control microbiológico	
AVILAMICINA	Orthosomycina	Ionophoro (metabolismo ionico)	G +	Especial para enterococcus
AVOPARCINA	Glicopeptido	Pared celular	G +	
BACITRACINA	Polipeptido	Pared celular	G +	
CARBADOX	Guinoxaline	DNA	G -	
FLAVOMICINA	Glicopeptido lipido	Pared celular	G +	
MONENSINA	Polyethic	Ionophoro (metabolismo ionico)	G +	
OLAQUINDOX	Quinoxalina	DNA	G -	
PALINOMICINA	Polyethic	Ionophoro (metabolismo ionico)	G +	
SPIRAMICINA	Macrolido	Proteina	G +	
TYLOSINA	Macrolido	Proteina	G +	
VIRGINIAMICINA	Macrolido	Proteina	G +	

G - Gram negativo

G+ Gran positivo

Extraido de D.E. CORPET (3)

IV.- LA PROBLEMÁTICA DEL USO DE LOS ANTIMICROBIANOS COMO MODULADORES DE CRECIMIENTO.

Como ya se ha indicado, el uso de antibióticos genera en distinta medida resistencia bacteriana, que a su vez provoca preocupación por los posibles riesgos derivados. En su aplicación como aditivos alimentarios para animales, el riesgo debe analizarse desde el punto de vista veterinario y de la Salud Pública.

Uno de los primeros Comités destinados a estos estudios, se convocó en el Reino Unido en 1966, para estudiar la importancia de la generación de bacterias resistentes -principalmente del género Salmonella- por el uso de los antimicrobianos en los alimentos de los animales, analizando el Riesgo de su transmisión al hombre. Se nombró un grupo de calificados científicos, presididos por Lord M. Swann, que tras el estudio de una copiosa información llegó a conclusiones que a pesar del tiempo transcurrido y de los múltiples estudios y Comités posteriores convocados para este mismo tema en distintas partes del mundo, continúan teniendo vigencia y son perfectamente actuales.

El informe Swann que no abandona la idea del tema de la generación de resistencia bacteriológica, como un mecanismo posible y hasta esperable, no pierde la óptica de los aspectos prácticos ante la sucesión de hechos que la realidad nos muestra como observaciones válidas e incuestionables. En principio reconoce que no se pueden reemplazar los resultados evidentes, sobre millones de animales tratados durante muchos años, por hipótesis derivadas de técnicas bacteriológicas, resultantes de

observaciones parciales, realizadas en laboratorios, alejados de las reales condiciones del medio. Es posible frente a algunos aislamientos de laboratorio, hacer inferencias que resultan analogías de dudosa repetición en la realidad, aunque deben tenerse en cuenta como hallazgo primario. Lo importante antes de hacer generalizaciones es profundizar las observaciones, mediante más completas técnicas de laboratorio y relacionarlas con los hechos, que se sustenten en la realidad práctica.

Sobre estos conceptos se basan las conclusiones del informe Swann, que se pueden resumir en los siguientes términos (10)

a) Los antibióticos usados en alimentos como promotores de crecimiento deben ser restringidos a sustancias que cumplen las siguientes características:

1. Los agentes usados como promotores de crecimiento en raciones alimentarias son moléculas que deben tener poca o ninguna aplicación en el hombre.

2. No deben perjudicar en la práctica la eficacia de la prescripción de antimicrobianos de uso humano por desarrollo de resistencias.

3. Se reconoce que tienen un alto valor económico para la producción animal en las condiciones agrícolas del Reino Unido.

4. Preferentemente No deben ser absorbidos por el tracto intestinal animal, por lo que no deben producir residuos en tejidos.

1 Los antibióticos de uso terapéutico,

deben ser usados únicamente en casos prescritos bajo control veterinario.

c) Las bacterias aisladas en animales, productos animales y el hombre deben ser monitoreadas para verificar la posibilidad de la antibioco-resistencia.

Estas conclusiones que tiene más de 30 años a pesar de los avances tecnológicos realizados, puede decirse que no han sido superadas y que sus contenidos deben ser la base para el enfoque del problema, aún en el día de hoy.

En definitiva la resistencia de gérmenes, sobre todo en las Enterobacterias son un efecto de la "variación" en el tiempo y su transmisión está vinculada al tránsito y contagio de las bacterias entre el medio, el hombre y los animales.

Como ya se ha señalado el informe Swann ha sido ratificado por numerosas Comisiones posteriores, ya mencionadas (Ver Sección III), entre las que debe destacarse la de la National Academy of Sciences de US en 1989, cuyo informe se puede resumir en los conceptos de su párrafo final:

"Luego de rever las evidencias, el Comité concluye que las postulaciones referidas al riesgo sobre la Salud Humana que puede resultar de la acción de la adición de dosis terapéuticas de antimicrobianos en los alimentos para animales, no pudo nunca ser demostrada, aunque no sea negada. La falta de datos de observaciones relacionados con enfermedad humana derivada de los niveles de uso subterapéuticos de los antimicrobianos, no puede ser usada para decir que el posible riesgo no existe pero tampoco para adjudicar

riesgos que la realidad y las investigaciones no demuestran. Las investigaciones deberían poder medir el riesgo definitivo, pero ello en la práctica resulta una tarea imposible" (11).

Ultimamente en 1997, la OMS realizó en Berlín un Seminario que concertó gran parte de la información de los estudios sobre casos de resistencia antimicrobiana en relación con la alimentación animal. Al evento concurren destacados profesionales del mundo científico actual, de la industria y de los organismos oficiales y sirvió para una actualización. Sin embargo a pesar de todos los datos e informaciones de observaciones actualizadas, en la práctica el informe Swann de 1966, continúa vigente y se confirma.

En las conclusiones del Seminario de Berlín, se oyeron voces contradictorias, algunas que daban alarma, basadas en analogías y extrapolación de observaciones y otras llamando a la serenidad frente a una evaluación más ponderada de los resultados de la realidad. Se podrían resumir en los siguientes puntos, las conclusiones definitivas recopiladas por la OMS:.

1. Las observaciones plantean que puede haber genes de resistencia de los gérmenes entre los animales, el hombre y el medio o ambiente.
2. Que debe monitorearse la resistencia bacteriana demostrada en animales destinados al consumo y en los alimentos de ese origen.
3. Existe todavía una profunda falta de datos estandarizados entre países sobre la susceptibilidad de bacterias zoonóticas.
4. Debe hacerse un manejo de riesgo a nivel de personas y de los animales de producción con un prudente uso de los antimicrobianos.

En resumen debe considerarse que la bacteriorresistencia es una realidad biológica y que dado la complejidad de los sistemas intervinientes, puede aceptarse el pasaje de gérmenes resistentes dentro de los componentes de la cadena Animales-Alimento-Medio-Hombre.

Sin embargo, todo ello debe ser interpretado y valorado en su verdadero riesgo para la Salud Pública y la Producción, pero no puede darse verdadera repercusión práctica a algunas observaciones parciales, más allá de las evaluaciones técnicas. El informe al analizar el impacto médico, señala que el riesgo derivado por los residuos de antimicrobianos, a través de los alimentos para generar resistencia de los gérmenes en el hombre, es reconocidamente muy bajo.

V.-LA APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DEL ANÁLISIS DE RIESGO.

Las técnicas de Análisis de Riesgo, sirven para identificar, cuantificar, manejar y comunicar la ocurrencia de sucesos nefastos, en este caso el de la resistencia microbiana. Conocido el riesgo y calculada la posibilidad de su ocurrencia teórica, el método consiste en establecer los mecanismos de manejo y de información para reducir o mitigar sus efectos.

El caso de la resistencia microbiana, no es fácil de cuantificar respecto a su real ocurrencia en la práctica puesto que la información se cuantifica en base a observaciones aisladas hechas en distintos ambientes y momentos. Es común que la observación parcial sea mal cuantificada y que datos de relativa relevancia sean magnificados o minimizados por error o manipulaciones tendenciosas afectando la obtención de una in-

formación representativa de la realidad.

A los efectos de fundamentar sobre bases sólidas los principios del método de Análisis de Riesgo, en la Tabla II se señalan los componentes más importantes y las características que deben ser atendidas y comprendidas con rigurosidad científica para cumplir con el Análisis de Riesgo.

Lo concreto que debe destacarse de esta técnica es que es el verdadero camino para estimar la importancia y trascendencia práctica, que tiene un hecho biológico natural y complejo como la resistencia bacteriana. Por medio de él podemos evaluar y distinguir con claridad si resulta un verdadero peligro para la salud humana y animal, o es un hecho controlable o irrelevante desde el punto de vista de su relación con la Salud Pública y la Producción. Aplicar y difundir estos aspectos en base a la observación científica, es la obligación de todos los involucrados en la bacteriorresistencia (12)

Tabla II

Componentes del Análisis de Riesgo aplicado a la Resistencia Bacteriana.

1) Identificación de Riesgo

- Detección del grado o nivel de resistencia "in vivo" e "in vitro" de determinadas especies bacterianas a determinadas moléculas. Identificación genómica de "pool de genes" que generan y transmiten las resistencias. Diferenciación de las respuestas en las pruebas de laboratorio y observaciones clínicas animales y humanas
- Identificación de especies animales afectadas, incluyendo al hombre.

- Ubicación geográfica animal y humana (datos hospitalarios y extrahospitalarios).
- Grado de contaminación de alimentos

2) Cuantificación de Riesgo. Mediciones sobre la difusión y exposición al contagio

- Determinación por muestreos con aislamientos, del grado o porcentaje de frecuencia de aparición de la resistencia en animales, alimentos y hombres
- Determinación de los valores del Error Estandar de los monitoreos por su número, tamaño y porcentaje aislados de resistencias.
- Análisis probabilístico de acuerdo a distribuciones Normal, Binomial Poisson, etc, sobre el grado de aparición de las resistencias en animales, medio ambiente, hombre y alimentos.
- Técnicas de asociación estadística (Chi cuadrado, Diferencias Error Estándar, Correlación -Regresión, Prueba de t, Análisis de Varianza y Covarianza, etc aplicadas a las observaciones de vigilancia y experiencias.

3) Manejo del Riesgo. Análisis de las consecuencias

- Determinación de los niveles de resistencia de los gérmenes "in vitro" y la respuesta terapéutica o de uso normal en animales y humanos
- Determinación de acciones cruzadas con antibióticos semejantes afectados por el "pool de genes"
- Grado de contaminación del alimento y posibilidades de control por métodos sanitarios (HACCP) (BPM)

4) Comunicación de Riesgo

- Información consolidada de los resul-

tados de las investigaciones y difusión objetiva de la misma entre órganos oficiales, consumidores, productores e industriales.

- Utilización racional de los resultados.

VI.-ANÁLISIS DE OBSERVACIONES SOBRE BACTERIO RESISTENCIA QUE ORIGINARON POLEMICAS Y PREOCUPACIÓN EN LOS ULTIMOS AÑOS.

1.El caso de la avoparcina - vancomicina y los Enterococos de origen animal y humano

En mayo de 1996 la UE prohibió el uso de la AVOPARCINA como promotor de crecimiento, a pesar de las recomendaciones en contrario del Comité Científico en nutrición animal (DGV-SCAN-Bruselas) (13).El único argumento que sostuvo esta decisión es el llamado " CUARTO FACTOR " o " FACTOR HURDLE", que sostiene el interés de la satisfacción al consumidor por razones económicas o político-culturales. El cuarto factor es en realidad la razón política en que se respalda la UNIÓN EUROPEA para justificar sus decisiones ajenas a principios técnicos y científicos. Estos se deben apoyar en TRES principios QUE SON LA CALIDAD, EFICACIA, e INOCUIDAD , como únicos factores para la aceptación de un producto o servicio. Conviene entonces resaltar los siguientes aspectos para interpretar esta decisión basada en intereses políticos.

a) La AVOPARCINA es un glicopéptido que se usa en Europa desde 1975 como aditivo alimentario. Tiene la cualidad de no ser absorbido por el intestino y actuar muy eficazmente sobre la flora Gram +, especialmente del género Enterococcus.

b) Se asoció la AVOPARCINA a otro glicopéptido como la VANCOMICINA, de uso amplio en medicina humana contra los *Enterococcus*, en base a la hipótesis de posibles transmisiones de plásmidos de gérmenes, que por presentar un cierto grado de AVOPARCINA- resistencia, por conjugación crearían resistencia contra la VANCOMICINA en el hombre.

c) Esta idea no pasa de ser una concepción teórica, que corresponde aclarar y definir con los siguientes argumentos, resultantes de la experimentación y observaciones prácticas:

1. La resistencia identificada como VANCOMICINA RESISTANT ENTEROCOCCUS (VRE) se produce por la codificación de un gen VAN A que es llevado por un transportador (enzima) similar o relacionado con el identificado como TN1546, que se transfiere por plásmidos conjugados a otros gérmenes. La resistencia se crea por desorganización de cadenas polipeptídicas que alteran la síntesis proteica. Menos frecuentes, aunque también actúan, son otros genes VAN B, VAN D, VAN C, que también afectan al *Enterococcus faecium* y al *Enterococcus casseliflavus*, de fácil ocurrencia en el hombre (4)

El proceso de alteración por resistencia se produce por generación de dipéptidos que se incorporan a precursores como peptidoglicano en vez de dipéptido D alanina, como sería el "pathway" metabólico normal y por el que se produce la antibiósisis. Su modificación genera así la resistencia. Este proceso ligado a glicopéptidos es común y coincidente en gérmenes que parasitan al hombre y animales tratados con antimicrobianos del mismo tipo químico estructural, como la

VANCOMICINA Y AVOPARCINA, pero de ninguna manera está indicando una relación causa efecto, animal-hombre (4)

Cuando se estudió en el Reino Unido la tipificación de las floras de *Enterococcus* resistentes en animales y en el hombre, sobre todo en casos hospitalarios, en los cuales existe gran presión por el uso de VANCOMICINA, se observó que por tipificación de códigos genéticos utilizando técnicas de PCR (Polimerase Chain Reaction) y "Fingerprints" se detectaron 14 patrones de tipificación diferenciados, que demuestran el no cruzamiento y la diferenciación de las floras aisladas en cerdos, pollos, ambiente con el de las personas tratadas (16).

En Alemania, Dinamarca y Noruega resulta común aislar en pollos, cerdos y desagües *Enterococcus faecium* y *Enterococcus fecalli*, resistentes VRE, a pesar de no usarse la Avoparcina. Estudios de prevalencia en personas hospitalizadas, que son los casos más frecuentes, aparecen con niveles de VRE que no son altos. La resistencia aparece en Francia 2% sobre 697 casos, en Bélgica 3,5% de 636 casos y entre un número de casos semejantes en Alemania 1%. Por otra parte se observa que en Dinamarca donde no se usa la avoparcina aparecen cerdos con floras VRE. Esto demuestra que deben existir otras causas de asociación para ambas resistencias.

En USA donde se utiliza solamente la VANCOMICINA, tiene en cambio más altos porcentajes en personas, que llegan a 10% en 1984 y 34% en 1994 (10). Lo indicativo es que en USA no se utiliza la AVOPARCINA, lo que descarta su relación y si la clara dependencia con los tratamientos específicamente en el hombre.

Estudios hechos en Dinamarca y Alemania sobre tipificación de *Enterococcus* por proteínas genéticas PSt, y PVull demuestran diferencias genéticas entre los tipos de *Enterococcus*, resistentes, según la procedencia de especies. Solamente en 3 cepas humanas entre centenares analizadas, se encontró componentes proteicos comunes con gérmenes de origen porcino(3). Sin embargo profundizando este estudio por pruebas de caracterización de DNA se demostró que sobre 113 aislamientos, sólo dieron 5 ribotipos comunes, entre los de origen hombre y animales(16). Continuando la investigación por técnicas más sensibles y específicas de PCR, quedó claramente demostrado que no hubo una sola cepa de resistencia humana correspondiente a VRE de origen animal (15)

En conclusión es evidente que tanto la VANCOMICINA como la AVOPARCINA producen resistencia a los antibióticos glicopéptidos, pero los causales de resistencia no significan que los casos humanos y los de animales, se deban a un cruzamiento de gérmenes por vía de los alimentos como se adjudicó apresuradamente. Los estudios de tipificación genética por pruebas de alta sensibilidad descartan el cruzamiento de especies y certifican el directo origen de la resistencia a sus antibióticos respectivos. Por otra parte es indicativa la observación epidemiológica, que demuestra que las diferencias entre USA y los países Europeos respecto a la prevalencia de los casos humanos de resistencia a la VANCOMICINA, está claramente disociados de la frecuencia de uso de la AVOPARCINA en animales. Por lo tanto la medida adoptada por la Unión Europea de 1996 se contradice con el informe SCAN (Scientific

Advisor Norms Committee) y con los hechos objetivos que presentan la realidad, que es ajena al interés político de las Directivas de la Comunidad Europea

2. Los casos de la Salmonella resistencia

Las Salmonellas y las *Escherichia coli* forman fácilmente "pools genéticos" que generan resistencias. Son gérmenes de amplia ubicuidad. que parasitan el intestino del hombre y los animales y suelen invadir el medio o ambiente por contaminación hídrica. Cambian su toxicidad con cierta facilidad, generando cepas que logran muchas veces quebrar las defensas inmunológicas y resistir niveles mas altos en las drogas que las controlan.

Existen múltiples "serovares" de Salmonellas, pero es importante destacar que si bien todas son patógenas en algún grado, también presentan afinidades especiales por distintas especies animales, como la Salmonella typhi para el hombre, la Salmonella cholerae suis para el cerdo o la Salmonella pullorum para las aves. Esta diversidad puede a su vez cambiar en patogenicidad y especificidad, generadas por "pools genéticos" que cambian su resistencia y virulencia. Estudios hechos sobre voluntarios humanos demuestran que una dosis infectante real debe contener por lo menos 10 microorganismos Salmonella enteritidis. Si se tratase de Salmonella typhi, la dosis infectante serían muy pocas células para infectar al hombre (17).

En función de los cambios en la resistencia y de los múltiples serovares, se producen selecciones que parasitan las diferentes especies

animales y que por vía de los alimentos y el agua pueden infectar al hombre.

Actualmente se individualizan más de 2000 "serotipos" por identificación de antígenos flagelados y somáticos (18). Estudios realizados por el FDA y el CDC (USHD) en USA, estiman que 6.5 a 33 millones casos de intoxicaciones alimentarias en general ocurren anualmente, con 9000 casos mortales. Una parte importante de este cuadro se deriva de las Salmonellas, que generan casos de escasa mortalidad pero de gran tasa de morbilidad.

Un hecho que los vincula a la relación con los alimentos se basa en la casuística encontrada en USA, donde el 1% de las carcasas bovinas y el 20% de las de pollos se encuentran contaminadas (19)

En 1984 aparecieron en USA y Europa serovares de Salmonella typhimurium DT 104 y DT 204 que parasitan al hombre y también animales que presentan resistencia a diversos antibióticos (20). La preocupación por estas cepas surge más enfáticamente cuando se demuestra que poseen una "clave genética" resistente al ácido nalidíxico, una fluoroquinolona de uso común en el hombre que también pertenece a un grupo antimicrobiano de extendida aplicación en los animales. Esta analogía sirvió enseguida para sospechar de la transmisión de estas cepas resistentes a través de alimentos de origen animal.

Sin embargo en el Reino Unido se demuestra que los fluoroquinolonas fueron aprobadas para uso animal en 1994 y que la cepa DT104, está presente en bovinos desde 1989 cuando fue primeramente aislada. También en el Reino Unido se

observó resistencia en el hombre en 1984 y la cepa DT 104 aparece en la casuística como segunda más frecuente (21). Estas observaciones epidemiológicas están indicando que la cronología de la aparición de estas cepas en el hombre, señalan algo más complejo que la simple vehiculización alimentaria y sí con la resistencia de "pool genéticos" generados por la presión antibiótica u otras razones ambientales vinculadas al propio hombre.

· Desde 1970 el FDA viene haciendo estudios retrospectivos y analizando el problema de la transmisibilidad zoonótica de las Samonellas, investigando los peligros de la subdosificación terapéutica, la importancia de los reservorios animales, su transmisión vía alimentos y el grado de antibiótico resistencia que aparece en el hombre (20)

· De estos estudios surgen varias observaciones y análisis.

1) Estudios realizados sobre cepas resistentes de origen humano, demuestran que no aparecen resistencias que no puedan ser controladas con la fluoroquinolonas. Su nivel de inhibición máximo "in vitro" fue de 0,25 mg/l; que resulta de una dosis debajo del estándar de susceptibilidad establecido por el National Committee of Clinical Laboratory Standards (20).

2) En animales la resistencia al tratamiento clínico con fluoroquinolonas no presenta desde la década del 90' poblaciones con problemas clínicos relevantes, ni con aumento de virulencia o patogenicidad que no respondan al tratamiento adecuado clásico. Los residuos en tejidos están dentro de los niveles de aceptación de LMR, debajo del riesgo.

3) Las Salmonellas como bacterias del intestino, presentan dos estadios (20):

a) Transitorios: Provenientes del ambiente. Provocan trastornos transitorios pero pasado el cuadro clínico, se eliminan y vuelven a su hábitat del medio

b) Residentes: Adaptadas al contenido intestinal del huésped, siendo por lo general comensales

En vacunos de USA las Salmonellas más dañinas son Salmonella typhimurium y Salmonella dublin, que son gérmenes por lo general de tránsito, que no generan portadores en los vacunos y se eliminan entre 3 y 16 semanas en el curso clínico. En pollos suele encontrarse la Salmonella enteritidis que no los afecta mayormente, pero causa trastornos serios cuando transita en el hombre. En ambos casos, para bovinos y aves, las fluoroquinolonas funcionan terapéuticamente, eliminando las poblaciones de tránsito en animales y las residencias demostradas no alcanzan a vencer la presión de la antibiosis. (21)

· Cabe destacarse que de no controlar con antimicrobianos las Salmonellas en los animales, se incrementaría el número de células que invaden los tejidos animales y por tal motivo aumenta el riesgo de transmisión al hombre por los alimentos. Por ese motivo la precaución, a veces propuesta, que recomienda el no usar fluoroquinolonas en los animales, lejos de resolver el problema, lo complica desde el punto de vista de la Salud Pública, por aumento de posibilidad de contagio.

· En USA se demuestra en los feed lots que los serovares de Salmonella se aíslan en un 10% (18) de los ani-

males, manteniendo ese nivel gracias al tratamiento sistemático con los fluoroquinolonas, y reduciendo el bajo nivel de riesgo de contagio al hombre. A pesar de su uso continuo no se han observado casos humanos con respuesta clínica resistente que generen problemas de tratamiento (21). Ello ayuda, como ya se ha expresado, a conseguir una infección de carcasas en las plantas de faena, no mayor al 1% (21).

· Todo esto apoya el uso de las fluoroquinolonas como factores de control en la cadena alimentaria originado en feed lots. Una demostración que apoya ello es por ejemplo, el hecho de la disminución de la parición de resistencia en el hombre a la TETRACICLINA, reducida desde 1980 con 31% al 18% en 1990, según datos del Departamento de Salud de los USA(3).

· Otro aspecto experimental importante de acuerdo a los estudios de Howards et al (22) demuestra que las mutaciones de S. typhimurium DT 104 se generan a las fluoroquinolonas en proporción de 10 a 10, pero los animales quedan libres de ellas por tratamiento convencional de fluoroquinolonas, a lo sumo dentro de los 4 meses. Esto es una clara demostración que la patogenicidad es un proceso controlable y manejable desde el punto de vista de la patología clínica.

· El problema de la transmisión de las Salmonellas al hombre, se agudiza con la aparición de la cepa DT 104, al igual que los problemas generados por la Escherichia coli 0157 H7 en la década del 90'. Estos son temas de mucha importancia en Salud Pública,

pero no derivados de resistencias antimicrobianas, que por otra parte productos como fluoroquinolonas logran clínicamente controlar, sino de la prevención en el control higiénico sanitario de los procesos de manipulación y fabricación de alimentos. La solución pasa por la calidad del control de los procesos, y no por la supresión de los antimicrobianos que por el contrario, ayudan a bajar las cargas de posibles contagios al hombre.

3. El problema del género *Campylobacter* y la resistencia

Los gérmenes del género *Campylobacter* son una frecuente causa de diarreas en el hombre, contra las que las fluoroquinolonas también presentan una excelente respuesta terapéutica que ha universalizado su uso durante los últimos años. Lógicamente aparecen cepas quinolonas resistentes que en algunos países llegan al 50% de los aislamientos. Las cepas más patógenas son el *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*.

Los mecanismos de resistencia se producen por mutación del gen Gyr A (treonina 86) que es una subunidad de la enzima DNA Gyrase. Aparece una acción cruzada contra las tetraciclinas principalmente la Euromicina, que se asocia al plásmido mediático (23). La resistencia "in vitro" comienza para este antibiótico arriba de 1-4 mg/ml y su ocurrencia está difundida por todos los países con rangos que llegan a 32 mg/ml o más en buen número de casos (23).

El uso de las fluoroquinolonas en veterinaria se difundió sobre todo en aves y cerdos, desde 1987 con la generalización de la enrofloxacin, como droga altamente eficaz contra las infecciones animales.

En medicina humana se aplicó desde mucho antes y en 1980 ya se demostraron pacientes que presentaron gérmenes resistentes a >32 ug/ml y >317 ug/ml a la ciprofloxacina, del grupo quinolonas (24). Esto ocurre muchas veces en pacientes que no recibieron tratamiento de ciprofloxacina, y por lo tanto la asociación de resistencia por el Gen Gyr A puede derivarse indudablemente de la reacción cruzada con otros antibióticos (23)

La primera reacción es la asociación analógica que atribuye la inducción de la resistencia a los gérmenes humanos por cepas derivadas de animales, aves y cerdos que recibieron tratamientos. Ello aparece como una hipótesis atractiva máxime cuando Everett y Piddock (23) en el Reino Unido en 1995 encontraron una mutación que aparece en aves y pollos, coincidentemente con el hombre y que son gérmenes resistentes también al ácido nalidíxico.

Sin embargo, cuando se profundiza por técnicas de tipificación molecular más precisas, se observa que por métodos de electroforesis del tipo South Blotting (25) usando endonucleasas de restricción se demuestra que los *Campylobacter* de origen humano y de pollo tienen patrones distintos; aquellos en la banda 4Kb y 14Kb y las de aves en la banda 18,5 Kb. Estudios detallados realizados en USA por Kovlik, Morthy and Color (25) demuestran que el 78% de los aislamientos en pollos y el 29% de los humanos corresponden a uno de los patrones, mientras que inversamente al otro patrón, corresponde el 21% de los pollos y el 71% de los humanos. Esto confirma que las cepas de origen humano y animal, por ser de perfiles distintos, no corresponden en su gran mayoría a cruzamiento de gérmenes

"inter-especie" y si son derivados de los respectivos tratamientos.

Este concepto es últimamente confirmado por trabajos de Geilhausen et al (26) demostrando que muy pocos aislamientos en pollos y humanos son idénticos y que en la tipificación genómica, las cepas presentan perfiles distintos.

En general en el hombre las infecciones por *Campylobacter* son más bien esporádicas y si bien epidemiológicamente se pueden demostrar relaciones de contacto con pollos, agua y leche, las diarreas por *Campylobacter* se suelen cortar solas, sin tratamiento antibiótico, excepto en caso de pacientes inmunodeprimidos. En estos casos responden clínicamente más allá de las mediciones de resistencia "in vitro", incluyendo las mutaciones más resistentes, coincidentes con las simultáneas al ácido nalidíxico. Cepas resistentes a 0,5 ug/mi en un 90% "in vitro", hasta niveles de 32 ug/ml, sean del origen que sea, sucumben al tratamiento de fluoroquinolones en su forma convencional (23).

Como conclusión y frente a las ventajas del tratamiento adecuado de las fluoroquinolonas asociadas a la terapéutica veterinaria, la poca evidencia demostrada en el cruzamiento inter-especies, a pesar de la difundida frecuencia de las infecciones propias de cada una de ellas y la eficacia terapéutica lograda en el hombre, más allá de los niveles de resistencia "in vitro", el problema del género *Campylobacter* reviste interés más académico y técnico que relevante por sus implicancias clínico prácticas.

VII.-EL PROBLEMA DE LAS RESISTENCIAS Y LAS LEGISLACIONES.

Fruto de las reacciones entre

emotivas y político motivadas, con que en los últimos años han sido tratados los antimicrobianos promotores de crecimiento, se ha producido una gran controversia respecto al uso de ellos, que es necesario clarificar y ubicar en su justo punto, para no caer en errores lamentables desde el punto de vista científico y de su verdadero valor y utilidad económica.

Es importante instalar un adecuado escenario, señalando la responsabilidad que le cabe a cada sector, sea productor, consumidor ó regulatorio oficial. El primero, siguiendo las buenas prácticas agrícolas y veterinarias, el consumidor informándose y comprendiendo que las ventajas obtenidas por su adecuado uso son mucho mayores que el riesgo potencial de la resistencia bacteriana y el sector oficial estableciendo las normativas para monitorear y controlar, con medidas responsables la marcha de la variabilidad bacteriana.

Toda tecnología involucra algún riesgo y los avances utilizados para lograr aumentos de la producción en beneficio de más alimentos, más baratos y seguros, como representa el uso de los antimicrobianos, conlleva también la necesidad de la vigilancia normativa y operativa de su uso.

Cuando se investigan los antimicrobianos usados en la alimentación animal debe responderse con objetividad si el "pool de genes" de una especie bacteriana - cosa inherente a la vida- , genera realmente una resistencia importante, con una eventual posibilidad de riesgo de trastornos terapéuticos en los tratamientos humanos o es una observación de resultados de laboratorio. Para ello, la técnica de Análisis de Riesgo debe instrumentarse como herramienta, antes de erigir marcos regulatorios, de

simple contenido prohibitivo, sin verdadero sustento práctico y sin sustento científico sólido.

Resulta fundamental seguir y comprender la secuencia del método analítico del riesgo, para definir un marco regulatorio y reconocer aspectos fundamentales de orden sanitario a favor de los antimicrobianos, tales como:

- 1) La diferencia de niveles de resistencia "in vitro" e "in vivo" a favor de los tratamientos clínicos, considerando y midiendo su real grado de eficacia terapéutica.
- 2) No prohibir ciertas drogas por la simple aparición de resistencias "in vitro", cuando funcionan clínicamente en forma excelente, desde décadas, controlando la flora intestinal animal y reduciendo la exposición del hombre a eventuales mayores contagios ambientales y alimentarios.
- 3) Tener en cuenta que comúnmente, no hay efectos por residuos de drogas antimicrobianas en alimentos, cuando son usadas correctamente y atendiendo los tiempos de retiro. Y por lo tanto no existen trastornos comprobados para la flora intestinal del hombre, por la simple presencia de la droga.
- 4) Tener presente que lo fundamental es prevenir el contagio del hombre, mediante el cumplimiento de las normas higiénicas de procesamiento, manipulación, almacenamiento y transporte, de los alimentos, que las reglamentaciones deben definir y controlar.
- 5) Los graves casos de enfermedades de origen alimentario en el hombre, como las causadas por Escherichia coli 0157 H7 y Salmonella typhimurium, no

se han debido a formas de resistencia a los antimicrobianos, sino a variaciones de patogenicidad al hombre. Las reglamentaciones no deben confundir ambos problemas y no adjudicar responsabilidad al uso de los antimicrobianos, en lugar de apuntar a las medidas higiénico-sanitarias correctivas.

Lamentablemente en la Unión Europea se sigue un criterio prohibitorio, como si ello pudiese controlar las variaciones de "pool de genes" microbianos, derivadas de las múltiples presiones del ambiente. Este comportamiento resulta un ejemplo desorientador, porque para la Unión Europea es importante reducir sus programas de subsidios a la producción de alimentos y para ello las tecnologías como la de los promotores de crecimiento representan un motivo ponderable de aumento, como ya se mencionó anteriormente.

En Suecia la prohibición de antimicrobianos en la alimentación animal data de 1986, y ha generado un importante aumento de enfermedades, como Enteritis Necrótica del Cerdo por Clostridium perfringens, debiendo incrementar el uso de tratamientos antibióticos terapéuticos, para conjurar los casos clínicos agudos. Otro problema ha sido el de los aumentos de coccidiosis que deben ser tratados como casos emergentes, con graves pérdidas económicas. También en Suecia, a raíz de estas prohibiciones se calcula que las pérdidas en la producción de cerdos se han incrementado en un 1,5% por mortandad, y la producción de lechones se ha retrasado en 5 a 6 días, para completar los 25 Kg de peso vivo (27). Si bien las diarreas se tratan de controlar con el uso de óxido de zinc 2000 ppm, no se resuelve el problema clíni-

co eficazmente y aumenta la polucion del metal pesado en el medio ambiente (27)

A fines de 1998 la Unión Europea, siguiendo esta tendencia, prohibió para Julio de 1999, sin fundamentos técnicos basados en estudios que respaldaron esta directiva, a cuatro antimicrobianos de efectivo uso: ESPIROMICINA, VIRGINIAMICINA, BACITRACINA ZINC Y FOSFATO DE TYLOSINA. Como no existen sustentos técnicos para justificar la prohibición se arguye que los estudios posteriores a la medida, SE HARAN PARA EL 31 DE DICIEMBRE DEL AÑO 2000. Para observar lo infundado de la directiva, se acompaña el cuadro III, en el que se presentan los parámetros toxicológicos y de residuos que corresponden a esos productos de acuerdo a las recomendaciones del JECFA y Codex Alimentarius (OMS/ FAO) y que son perfectamente conocidas.

Resulta obvio que una medida de esta naturaleza, inconsulta y sin atender el plano técnico que deben garantizar los tres principios científicos: CALIDAD, EFICACIA E INOCUIDAD, solamente tiene sustento en argumentos económico-políticos solamente basados en el FACTOR o Principio "Hurdle".

En tal sentido Estados Unidos ha mantenido políticas de base más científicas y de apoyo a los mecanismos tecnológicos que mejoran la producción, manteniendo un criterio más económico y salvando en justa medida el mínimo grado de riesgo para el hombre que pudiese implicar el uso de estos productos, atendiendo las ventajas relativas que recibe tanto desde el punto de vista sanitario como productivo.

Es importante que las autoridades sanitarias de los países en gene-

ral sigan atentamente la evolución de los procesos de resistencia microbiana, pero con criterio técnico, sin tendencias emotivas, poco respaldadas científicamente y sí manejadas desde ciertos sectores políticos, para regular los aumentos de producción.

Es importante, también que los sectores afectados de la industria y la producción hagan oír su voz no sólo en defensa de sus propios intereses, sino para orientar y aclarar la realidad al consumidor -fácilmente confundible- y a las autoridades regulatorias para apoyarlos y colaborar en situaciones de presión o desorientadoras, esgrimidas por intereses políticos.

La respuesta a la posición política, debe ser la técnica y la lucha contra medidas arbitrarias es insistir por todos los medios de comunicación y difusión, en la presentación de la verdad científica apoyada por hechos técnicos y observaciones consolidadas.

Los plásmidos y "pool genéticos" no conocen otras leyes que las biológicas de adaptación y supervivencia, pero se presentan claramente a quienes las quieren ver y por lo tanto medir, evaluar y controlar. De allí deben salir las disposiciones regulatorias y no de cónclaves apoyados por intereses político-económicos.

Esta es la única forma de avanzar en el plano de la verdad científica. De su evaluación debe surgir la adopción de medidas que sean fundadas y justificadas a los diversos aspectos de la realidad, apoyando al consumidor y su salud con alimentos sanos, nutritivos y económicos.

De todo ello surge que más que el uso restringido de los antimicrobianos propuesto por diversas líneas de opinión, lo que debe propenderse es el uso responsable por parte de to-

dos; productores, industriales, servicios oficiales y consumidores, para ubicar-

se en el punto de la certeza, no de la exageración.

TABLA III
DATOS TOXICOLÓGICOS Y RESIDUOS

	LMR	IDA
AVOPARCINA		
Músculo	<0,2 ppb	< 0,2
Grasa	<0,4 ppb	< 0,2
Hígado	<0,5 ppb	< 0,5
Riñón	<0,5 ppb	< 0,5
VIRGINIAMICINA		
Músculo	0,1 ppb	0,1 ppb
Grasa	0,3 ppb	0,3 ppb
Hígado	0,4 ppb	0,2 ppb
Riñón	0,4 ppb	0,5 ppb
TYLOSINA		
Músculo	0,2 ppb	
Leche	0,05 ppb	
Huevos	0,2 ppb	
BACITRACINA ZINC		
Músculo	0,5 ppb	
Leche	0,5 ppb	
Huevos	0,5 ppb	

Datos Jecfa y Codex Alimentarius (OMS/FAO)

RESUMEN

Los antimicrobianos moduladores de crecimiento, desde hace años vienen siendo cuestionados por razones que vinculan la bacterio-resistencia a la Salud Pública, bajo la hipótesis de su transmisión al hombre por los alimentos. Aparecen así sospechas resultantes de observaciones parciales e informaciones apresuradas, que cuando se estudian utilizando técnicas más exhaustivas, y se aplican métodos científicos y tecnologías modernas, lejos de confirmarlas, demuestran que la vehiculización alimentaria de las moléculas de antibióticos, es un hecho poco relevante y que la bacterio-resistencia en el hombre tiene otras causas más importantes y frecuentes que su transmisión por los alimentos.

La Actividad Antibiótica

La acción farmacológica sobre microorganismos, se cumple mediante cuatro principales mecanismos, por los cuales los antibióticos producen su efecto farmacológico.

Por inhibición de la síntesis de la pared celular, por alteración de la síntesis proteica, por alteración de los "pathways" enzimáticos y alteraciones en el intercambio iónico a nivel membrana - citoplasma y por inhibición de la replicación de los ácidos nucleicos del DNA a nivel cromosómico.

Acciones antimicrobianas de efecto metabólico nutricional:

Otras moléculas actúan por selección en el tracto digestivo animal, de algunos microorganismos que producen fermentaciones útiles para el metabolismo animal. Estas acciones se producen a nivel del rumen en los ruminantes y en el tracto ileo - cecal en monogástricos.

La Generación Microbiana de la Resistencia

La llamada RESISTENCIA MICROBIANA es un fenómeno universal, que se cumple desde el origen propio de las formas de vida y que depende de diversos factores.

La Natural resistencia de la pared microbiana a la sustancia antibiótica y la resistencia Adquirida, que produce por: Conjugación o sea que se transfiere el segmento del código genético, a otros individuos por medio de plásmidos; la Transducción, por la que el material genético resistente se vehiculiza por lisis bacteriana, originada por "fagos" y la Transformación, en la que se libera al medio el DNA, con códigos resistentes de una bacteria, siendo absorbido directamente por otra.

Es evidente que la modificación microbiana existe y se expresa contra moléculas con un nivel de susceptibilidad diferente, pero debe tenerse en cuenta, que muy pocas veces en la práctica, resulta tan alto y complejo que no pueda ser controlado con un adecuado manejo. Ello incluye la buena praxis médica, las buenas prácticas veterinarias y agrícolas y las buenas prácticas de manufactura. Todo ello coordinado y con una clara visión de la verdadera dimensión del problema en la relación animal-alimentos y salud humana.

El riesgo en Salud Pública radica en la contaminación bacteriana en sí misma, con o sin "pool de genes" resistentes, que se transmite al hombre vía alimentos como enfermedad zoonótica, por medio de elementos contaminados o por sistemas de manipulación alimentaria que no guarden principios de higiene.

Es un concepto, que está científicamente admitido actualmente, que a los niveles de residuo de antimicrobianos en alimentos, debajo de los LMR y con el cumplimiento de los tiempos de retiro, según las dosis comúnmente usadas, no se generan niveles de inducción a la bacterio-resistencia. Por lo tanto de acuerdo a experiencias universalmente reconocidas, el riesgo real para el hombre reside en la transmisión de gérmenes vehiculizable por los alimentos y ese es el aspecto que debe estudiarse vinculado con las resistencias.

La aplicación de las técnicas del Análisis de Riesgo

Las técnicas de Análisis de Riesgo, sirven para identificar, cuantificar, manejar y comunicar la ocurrencia de sucesos nefastos, en este caso el de la resistencia microbiana. Conocido el riesgo y calculada la posibilidad de su ocurrencia teórica, el método consiste en establecer los mecanismos de manejo y de información para reducir o mitigar sus efectos.

Análisis de observaciones sobre bacterio resistencia que originaron polémicas y preocupación en los últimos años

1. El caso de la avoparcina - vancomicina y los Enterococos de origen animal y humano.

En conclusión es evidente que tanto la VANCOMICINA como la AVOPARCINA producen resistencia a los antibióticos glicopéptidos, pero los causales de resistencia no significan que los casos humanos y los de animales, se deban a un cruzamiento de gérmenes por vía de los alimentos como se adjudicó apresuradamente. Los estudios de tipificación genética por pruebas de alta sensibilidad descartan el cruzamiento de especies y certifican el directo origen de resistencia a sus antibióticos respectivos. Por otra parte es indicativa la observación epidemiológica, que demuestra que las diferencias entre USA y los países Europeos respecto a la prevalencia de los casos humanos de resistencia a la VANCOMICINA, está claramente dissociada de la frecuencia de uso de la AVOPARCINA en animales.

Por lo tanto la medida adoptada por la UE de 1996 se contradice con el informe SCAN y con los hechos objetivos que presentan la realidad, que es ajena al interés político de las Directivas de la Comunidad Europea.

2. Los casos de la Salmonella resistencia

Las Salmonellas y las Escherichia coli forman fácilmente "pools genéticos" que generan resistencias. Son gérmenes de amplia ubicuidad que parasitan en el intestino del hombre y los animales y suelen invadir el medio o ambiente por contaminación hídrica. Cambian su toxicidad con cierta facilidad, generando

cepas que logran muchas veces quebrar las defensas inmunológicas y resistir niveles mas altos en las drogas que las controlan.

Estudios realizados sobre cepas resistentes de origen humano, demuestran que no aparecen resistencias que no puedan ser controladas con las fluoroquinolonas. Su nivel de inhibición máximo "in vitro" fue de 0,25 mg/l; que resulta una dosis debajo del estandar de susceptibilidad establecido por el National Committee of Clinical Laboratory Standards (20).

En animales la resistencia al tratamiento clínico con fluoroquinolonas no presenta desde la década del 90' poblaciones con problemas clínicos relevantes, ni con aumento de virulencia o patogenicidad que no respondan al tratamiento adecuado clásico. Los residuos en tejidos están dentro de los niveles de aceptación de LMR, de bajo riesgo.

Estos son temas de mucha importancia en Salud Pública, pero no producidos por resistencias antimicrobianas derivadas de los alimentos, que por otra parte productos como fluoroquinolonas logran clínicamente controlar. Ellos se derivan de la falta de prevención en el control higiénico sanitario de los procesos de manipulación y fabricación de alimentos. La solución pasa por la calidad de control de los procesos, y no por la supresión de los antimicrobianos que por el contrario, ayudan a bajar las cargas de posibles contagios al hombre.

3. El problema del género *Campylobacter* y la resistencia

Los gérmenes del género *Campylobacter* son una frecuente causa de diarreas en el hombre, contra las que las fluoroquinolonas también presentan una excelente respuesta terapéutica, que ha universalizado su uso durante los últimos años.

Los mecanismos de resistencia se producen por mutación del gen Gyr A (treonina 86) que es una subunidad de la enzima DNA Gyrase. Aparece una acción cruzada contra las tetraciclinas principalmente la Euromicina, que se asocia al plasmido mediático (23). La resistencia "in vitro" comienza para este antibiótico por encima de 1-4 ug/ml y su ocurrencia está difundida por todos los países con rangos que llegan a 32 ug/ml o más en buen número de casos pero que no por ello dejan de responder al tratamiento clínico.

Como conclusión y frente a las ventajas del tratamiento adecuado de las fluoroquinolonas asociados a la terapéutica veterinaria, la poca evidencia demostrada en el cruzamiento inter-especies, a pesar de la difundida frecuencia de las infecciones propias de cada una de ellas y la eficacia terapéutica lograda en el hombre, más allá de los niveles de resistencia "in vitro", el problema del género *Campylobacter* reviste interés más académico y técnico que relevante por sus implicancias clínico prácticas.

El problema de las resistencias y las legislaciones

Fruto de las reacciones entre emotivas y político motivadas, con que en los últimos años han sido tratados los antimicrobianos promotores de crecimiento, se ha originando una gran controversia respecto al uso de ellos, que es

necesario clarificar y ubicar en su justo punto, para no caer en errores lamentables desde el punto de vista científico y de su verdadero valor y utilidad económica.

Es importante instalar un adecuado escenario, señalando la responsabilidad que le cabe a cada sector, sea productor, consumidor y regulatorio oficial. El primero, siguiendo las buenas prácticas agrícolas y veterinarias, el consumidor informándose y comprendiendo que las ventajas obtenidas por su adecuado uso son mucho mayores que el riesgo potencial de la resistencia bacteriana, y el sector oficial estableciendo las normativas para monitorear y controlar, con medidas responsables la marcha de la variabilidad bacteriana.

Es importante que las autoridades sanitarias de los países en general sigan atentamente la evolución de los procesos de resistencia microbiana, pero con criterio técnico, sin tendencias emotivas, poco respaldadas científicamente y si manejadas desde ciertos sectores políticos, para regular los aumentos de producción.

Es importante también que los sectores afectados de la industria y la producción hagan oír su voz no sólo en defensa de sus propios intereses, sino para orientar y aclarar la realidad al consumidor -fácilmente confundible- y a las autoridades regulatorias para apoyarlos y colaborar en situaciones de presión o desorientadoras, esgrimidas por intereses políticos.

La respuesta a la posición política, debe ser la técnica y la lucha contra medidas arbitrarias es insistir por todos los medios de comunicación y difusión, en la presentación de la verdad científica apoyada por hechos técnicos y observaciones consolidadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Mc Mullin, P.- Antibiotic Conference. December 1st, 1997. , Cavendish Conference Centre. British Veterinary Poultry Association.
- 2) Neu, Harold C. - The Crisis in Antibiotic Resistance. Science. Vol 257 21/8/ 1992 (1064)
- 3) Corpet, D.E. - Microbiological hazards for humans of antibiotal growth promoter use in animal production. Revue.Méd. Vét. 1999.147, 12. (851.862)
- 4) Neu, M.C. - Annual Rev.Méd. 1992 43.466
- 5) Tancrede, C y van Barakat, R. - Ecological impact of low dosis of oxitetracycline of human intestinal microflora. Advances in Vet. Méd. 42. Supplement 35-39. 1989
- 6) Gustafson, R.H. y Downen R.E. - Anitibiotic use in Animal Agriculture. The Society for Applied Bacteriology J. 83.531-541 (1997)ournal of Applied Bacteriology
- 7) Corpet D.E. - idem referencia (3)
- 8) Elder H.A., Lehman, S, Phillips R.L., Kass, E.H. - Human Studies to measure the effect of antibiotic residues. Veterinary and Human Toxicology. 35.31-36 (1993)
- 9) Guinée, P., Ugueto, N. Van Leeuwen, N. - Escherichia coli with resistance factors in vegetarians, babies and nonvegetarians. Applied Microbiology, 20.531-535, (1970)
- 10) Informe Comité Lord Swann. 1969. Anabolic Conference. The benefits using in food producing animals are greather than the risk. December 1, 1997. Cavendish Conference Center. Cavendish United Kindom.
- 11) National Academy of Sciences National Research Council (1980) The effects on human health of subterapeutic use of antimicrobials in animal feed - Washington DC - National Academy Press.
- 12) Técnicas de Análisis de Riesgo en Alimentos. Codex Alimentarius. Report of XI Session Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs. Washington DC. 15-18 September 1998. (ALIMORM 99/31- CODEX)
- 13) SCAN (Scientific Committee of Animal Nutrition DGVI Brussels) 21 de Mayo 1996. Comisión Económica Europea.
- 14) Witte, W, Leclercq R, Pugh M. - Current knowledge on avoparcin use in agriculture and development of vancomycin-resistant bacteria. Report and

Proceeding of a WHO Meeting. Berlin. Germany 13-17 October 1997 pag. 201

- 15) Klare, I., Heier, H., Claus, H., Böhme, G., Marin, S., Seitmann, G., Hakenbeck, R., -Antanassova, V., Witte, W. Enterococcus faecium strains with vanA-mediated high-level glycopeptide resistance isolated from animal foodstuffs and fecal samples of humans in the community. *Microb. Drug Res* 1: 265-272 (1995b)
 - 16) Devriese, L.A. et al. Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40:2283-2287 (1996)
 - 17) Bean, N.H. et al. Surveillance for Food Borne outbreaks USA. 1988-1992 Morbidity and Mortability Weekly Report Surveillande summary. 1996: 45.(55-5) 1-65
 - 18) Angulo F. - Significance and sources of antimicrobial resistant montyphoidal Salmonella infections in humans in USA. Proceedings of WHO Meeting. Berlin. Germany 13-17 October 1997 (pag. 173)
 - 19) Sundlof, S. , Cooper, J., Miller, M. -Safety requirements for antibiotal animal drug products used in food-producing animals. Proceedings of WHI Meeting. Berlin. Germany 13-17 October 1997 (pag. 67)
 - 20) Sundlof, S. - Historical perspective on the public health risks associated with antibiotic use in food-producing animals. Report and Proceedings of WHO Meeting. Berlin.Germany 13-17 October 1997 (pag. 217)
 - 21) Miller, M., et al - Microbiological risks associated with fluoroquinolone use in food-producing animals. Report and Proceedings of WHO Meeting. Berlin.Germany 13-17 October 1997 (pag. 133)
 - 22) Howards H.J. et al - The emergence of ciprofloxacin resistance in Salmonella typhimurium. *Antimic. Chemothec.* 26:296-298 (1990)
 - 23) Piddock, L.J.V. - Quinolone resistance and Campylobacter. Report and Proceedings of WHO Meeting. Berlin. Germany 13-17 October 1997 (pag. 191)
 - 24) Taylor D.E. et al - Susceptibility of Campylobacter species to molidixine acid, enroxacin and other DNA -Gynese inhibitors antimicrobial Agents and Chemotherapy 28:798-10 (1985)
 - 25) Rovolik V et al - Differentiation of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli strains using DNA profiles and DNA fragment polymorphisms. *Journal of Chemical Microbiology.* 33:1136-1140 (1995)
- Gielhausen A. Et al. - Comparison of Campylobacter DNA patterns of human

- 26) and chicken isolated by pulsed field Electrophoresis (PFE). Report of WHO Consultation Epidemiology and Control of Campylobacteriosis . pp 65-68 (1994)

- 27) Wierup M. - Ten years without antibiotic growth promoters-results from Sweden. Report and Proceedings of WHO Meeting. Berlin. Germany 13-17 October 1997(pag. 229)